تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences

مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی
جلد چهارم، شماره اول، نیمه‌اول ۹۰
۳۱-۲۱

بررسی سودمندی قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* و باکتری *Azospirillum* Sp. در افزایش تحمل گندم رقم سرداری (*Triticum aestivum*) به تنش شوری

سمیه حاجی‌نیا[۱]، محمد جواد زارع[۲*]، ابراهیم محمدی گل تپه[۳]، فرهاد رجالی[۴]

۱. کارشناس ارشد زراعت؛ ۲. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه ایلام؛
۳. استاد گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس؛ ۴. استادیار موسسه تحقیقات آب و خاک کرج.

تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۲۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱/۲۸

چکیده

شوری آب و خاک یکی از مشکلات جدی و رو به توسعه در سطح جهان است، که سطح وسیعی از اراضی کشور نیز با این مشکل مواجه هستند. کاربرد میکروارگانیسم‌های اندوفیت که از مهمترین میکروارگانیسم‌های خاک محسوب می‌شوند، در کاهش تنش‌های محیطی مانند شوری، به یک راهکار جهانی تبدیل شده است. بنابراین به منظور بررسی اثرات تلقیح قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* و ریزوباکتریهای افزاینده رشد گیاه *Azospirillum* sp. بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه گندم تحت تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در پاییز سال ۱۳۸۹ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل کاربرد پنج سطح میکروارگانیسم‌های اندوفیت (قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا، باکتری آزوسپیریلوم سویه‌های سازگار به مناطق شور و غیر شور، تلقیح توأم قارچ و باکتری و شاهد) و چهار سطح شوری آب آبیاری (۰/۲، ۴، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر) بود. نتایج نشان داد که قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا تأثیر مثبت و معنی‌داری بر رشد، میزان زیتوده تر و خشک اندام‌های هوایی، کلروفیل و محلول‌های اسمولیت در گیاهان گندم تلقیح شده تحت شرایط شور و غیر شور داشت، به طوری که کاربرد قارچ منجر به کاهش اثرات سوء شوری و بهبود رشد گیاه گندم گردید. گیاهان گندم تلقیح شده با باکتریهای آزوسپیریلوم از میزان زیتوده، تجمع اسمولیت‌ها و کلروفیل بیشتری برخوردار بودند. تلقیح با باکتری آزوسپیریلوم سویه سازگار به شوری تأثیر مطلوب‌تری بر کلروفیل و میزان زیتوده داشت. نتایج این تحقیق نشان داد که تحت شرایط شوری می‌توان از میکروارگانیسم‌های اندوفیت در جهت افزایش رشد و عملکرد گیاه گندم استفاده نمود.

***واژه‌های کلیدی*: آب شور، تنش‌های محیطی، صفات فیزیولوژیکی، گندم، میکروارگانیسم‌های افزاینده رشد گیاه**

مقدمه

امروزه در اثر تغییر اقلیم و کاهش میزان بارندگی در مناطق نیمه‌خشک، مشکلات ناشی از کمبود آب و شوری بر تولید گیاهان زراعی نمود بیشتری یافته است. شوری خاک مناطق کشاورزی یک مشکل جهانی است. برآورد گردیده است که ۱۰ درصد زمین‌های کشاورزی زیر کشت گیاهان زراعی و بیش از ۲۷ درصد زمین‌های تحت آبیاری به طور مستقیم تحت تأثیر شوری است (Shannon, 1990). گزارشات اعلام شده اخیر، نشان داد که بیش از یک سوم اراضی کشاورزی تحت تأثیر شوری است (Qadir et al., 2000). به دلیل قرارگیری ایران در منطقه آب و هوایی خشک و نیمه‌خشک، نزدیک به ۵۰ درصد سطح زیرکشت محصولات کشاورزی، به درجات مختلف با مشکل شوری و قلیایی مواجه می‌باشد (Mir Mohammadi Mibodi and Ghoryazi, 2001).

تأثیر محیط‌های شور بر گیاهان شامل کاهش پتانسیل آب ناشی از وجود نمک‌ها در محیط ریشه، اثر سمیت یون‌ها به ویژه یون‌های سدیم و کلر (Naidoo and Rughunanen, 1990) و عدم تعادل یونی بین یون‌های سدیم، کلر، پتاسیم، نیترات و فسفات می‌باشد. به طور کلی در شرایط شور قابلیت جذب عناصر غذایی در محلول خاک به دلیل غلظت زیاد یون‌های کلرید و سدیم کاهش یافته و منجر به اختلال در امر تغذیه گیاهان می‌گردد (Gorham et al., 1985).

نگارنده پاسخگو: محمد جواد زارع. پست الکترونیک: mj.zarea@ilam.ac.ir

گندم گیاهی نسبتاً مقاوم به شوری، با حد آستانهٔ شوری برابر ۶ دسی زیمنس بر متر و شیب کاهش عملکرد برابر ۷/۱ درصد می‌باشد (Mass and Hoffman, 1977). با توجه به گسترش روز افزون مساحت خاک‌های شور، ضرورت دستیابی به راه‌حلهای علمی برای افزایش بازده محصول در شرایط شوری، بیشتر احساس می‌شود. یکی از راه‌حل‌های اساسی برای این مشکلات، استفاده از پتانسیل‌های مفید همزیست‌های گیاهی است. استفاده از میکروارگانیسم‌ها، باکتری‌های افزاینده رشد گیاهی و قارچهای میکوریزا، در جهت افزایش تحمل به شوری در گیاهان زراعی و باغی به یک راهکار توسعه یافته تبدیل گردیده است (Hamdi, 1999; Bacilio et al., 2004).

باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) گروهی از باکتری‌های ریزوسفری مفید می‌باشند که می‌توانند به طورمستقیم (تثبیت نیتروژن، تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاه، افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی مختلف برای گیاه، تولید ویتامین‌ها و دیگر مواد محرک رشد گیاه) و یا غیر مستقیم (تولید آنتی‌بیوتیک، تخلیه ریزوسفر از آهن، رقابت با گونه‌های مضر برای اشغال ریشه، تولید آنزیم‌های لیز کننده دیواره سلولی قارچهای بیماریزای گیاهی، ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاه و افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های غیر زنده) موجب افزایش رشد گیاه شوند (Glick et al.,1995). قارچهای آربسکولار میکوریز نیز نقش مهمی در بهبود تغذیه و رشد گیاهان تحت شرایط شور دارند، به نحوی که بعضی آنها را به عنوان اصلاح کنندگان زیستی خاکهای شور می‌نامند (Singh et al., 1997). تلقیح با باکتری‌های افزاینده رشد گیاهی و قارچهای میکوریز موجب افزایش جوانه‌زنی، ظهور گیاهچه‌ها و افزایش عملکرد در غلات و سایر گیاهان گردیده است (Zahir et al., 2004).

وجود قارچهای آربوسکولار میکوریز در خاک‌های شور و ایجاد همزیستی با ریشه بسیاری از گیاهان در این شرایط نشان می‌دهد که احتمالاً برخی از این قارچها در برابر تنش شوری مقاوم بوده و در همزیستی با گیاهان، از طریق بهبود رشد گیاه، تحمل آنها را در برابر شوری افزایش می‌دهند (Al-Karaki, 2000; Yano-melo et al., 2003). ورما و همکاران (Verma et al., 1998) یک نوع جدید از قارچهای اندوفیت ریشه بنام *Piriformospora indica* را معرفی کردند. *P. indica* متعلق به بازیدیومایست‌ها و دارای خصوصیاتی مشابه قارچهای آربوسکولار میکوریز است (Varma et al., 2001). علاوه بر این در مقایسه با قارچهای آربوسکولار میکوریز که همراه با میزبان رشد می‌کنند، قارچ *P. indica* مزیت‌های دیگری از جمله توانایی رشد در غیاب میزبان در محیط کشت و قابل کشت بودن در محیط درون شیشه‌ای آزمایشگاه را دارد (Varma et al., 1999).

با توجه به مشکل شوری آب آبیاری و گستره وسیع خاک‌های شور و اهمیت تولید محصول در این شرایط و با توجه به اینکه نقش میکروارگانیسم‌ها در رشد و نمو گیاه تحت شرایط شور چندان مورد بررسی قرار نگرفته است و همچنین به دلیل اهمیت گندم به عنوان یک محصول عمده مناطق خشک و نیمه‌خشک، این پژوهش با هدف ارزیابی اثر میکروارگانیسم‌ها (قارچ پیریفورموسپورا و باکتری آزوسپیریلوم) در کاهش اثرات NaCl بر رشد گیاهچه‌های گندم رقم سرداری اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر قارچ اندوفیت *P. indica* و باکتری *Azospirillum* Sp. بر رشد گیاهچه‌های گندم رقم سرداری تحت شرایط تنش شوری، آزمایشی در شرایط گلخانه به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام انجام شد. فاکتور اول با پنج سطح شامل (تلقیح با قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا، باکتری آزوسپیریلوم سویه‌های سازگار به مناطق شور و غیر شور، تلقیح توأم قارچ و باکتری و بدون تلقیح) و فاکتور دوم چهار سطح شوری آب آبیاری (EC_W) شامل آب معمولی ($0.2\ dS\ m^{-1}$)، شوری کم ($4\ dS\ m^{-1}$)، شوری متوسط ($8\ dS\ m^{-1}$) و شوری شدید ($12\ dS\ m^{-1}$) بود.

جهت آماده سازی باکتری و آلوده نمودن بذر، ابتدا بذرهای گندم (*Triticum aestivum* cv. *Sardari*) به ترتیب در الکل ۷۰ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و سپس توسط هیپوکلریت سدیم ۰/۲ درصد به مدت دو دقیقه ضدعفونی سطحی شدند. بعد سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو گردیدند تا اثر هیپوکلریت سدیم حذف شود. سپس به محلول حاوی باکتری آزوسپیریلوم سویه‌های سازگار به مناطق شور و غیر شور (جدا شده از ریشه‌های ذرت منطقه

کوهدشت و خاک‌های شور خوزستان) منتقل گردید و به مدت یک ساعت در شیکر قرار گرفت تا نفوذ باکتری به داخل شیارها و پوست دانه امکان پذیر گردد.

جمعیت باکتری 10^8 سلول باکتری در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح بود. نسبت آغشته کردن بذر با مایه تلقیح $\frac{1}{10}$ بود. باکتری‌های مورد نظر در آزمایشگاه گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام جداسازی و تکثیر شدند (Zarea et al., 2012). مایه تلقیح قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا در کلکسیون قارچ‌شناسی گروه بیمارشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهیه و سپس جهت آزمایش آماده گردید (Zarea et al., 2012).

بذرهای تلقیح شده یا تلقیح نشده با باکتری‌های آزوسپیریلوم (سویه‌های سازگار به مناطق شور و غیر شور) در ۶۰ گلدان (۲۱ سانتیمتر قطر دهانه و ۲۲ سانتیمتر ارتفاع) که با مخلوطی از رس، ماسه و کود دامی استریل به نسبت ۲:۱:۱ پر شده بود به تعداد ۲۰ عدد بذر در هر گلدان در اول آبان ۱۳۸۹ کشت گردید. عمل استریل رس، ماسه و کود دامی با استفاده از آون در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار ساعت و در سه روز متوالی انجام گرفت. پس از چندین روز تعداد گیاهان برای یکنواختی به ۱۰ عدد در هر گلدان کاهش یافت. از میسیلوم‌های رشد کرده قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا برای تلقیح ریشه‌های گندم استفاده شد. پس از رشد گیاهچه‌ها، خاک اطراف ریشه را کنار زده و میسیلوم‌های قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا روی ریشه‌ها قرار داده شد. برای تیمار توأم (آزوسپیریلوم و پیریفورموسپورا ایندیکا) ابتدا بذرها را با مایه تلقیح آزوسپیریلوم آغشته کرده و سپس ریشه‌ها را با مایه تلقیح پیریفورموسپورا ایندیکا تلقیح داده شدند.

آب آبیاری با سه سطح شوری ۴، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس در متر در طول دوره رشد به عنوان تیمار شوری مورد استفاده قرار گرفت. از آب معمولی با شوری ۰/۲ دسی زیمنس به عنوان تیمار شاهد و برای سایر تیمارها از ترکیب کلرید سدیم و کلرید کلسیم با نسبت ۲ به ۱ جهت اعمال شوری استفاده گردید. اعمال تیمار شوری به منظور جلوگیری از شوک ناگهانی شدید گیاه گندم بصورت تدریجی اعمال شد. جهت تثبیت همزیستی باکتری، کود نیتروژن یک ماه بعد از رشد به گلدان‌ها اضافه گردید. همچنین جهت کنترل همزیستی قارچ، فسفر نیز با فاصله زمانی یک ماه، با خاک گلدان‌ها مخلوط شد.

رشد گیاهچه‌های گندم در گلخانه در طی ۹۰ روز با طول دوره روشنایی ۱۲-۱۰ ساعت صورت گرفت. گلخانه از نوع گلخانه معمولی با پوششی شیشه‌ای و شرایط آن نزدیک به شرایط محیطی بود. دمای روز و شب در طول دوره رشد گیاه گندم به ترتیب ۲۵ و ۱۰-۰ درجه سانتی-گراد و میزان رطوبت نسبی ۴۵-۶۰ درصد بود. در پایان دوره ۹۰ روزه پس از طی مرحله پنجه‌دهی، گیاهان از سطح خاک برداشت گردیدند و صفات فیزیولوژیکی مانند مقدار رطوبت نسبی برگ، میزان کربوهیدارت محلول، پرولین و رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a و b) اندازه‌گیری شد. علاوه بر این وزن زیتوده خشک و تر اندازه‌گیری شد. برای تعیین محتوای کلروفیل a و b برگ در انتهای مرحله پنجه‌دهی، از استون استفاده شد و میزان جذب نور عصاره با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر که روی طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر تنظیم شده بود، اندازه‌گیری شد (Strain and Svec, 1966). اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول برگ بر اساس روش ثیمیاه (Thimmaiah, 2004) و با استفاده از فنل و اسیدسولفوریک انجام و میزان نور جذبی در طول موج ۴۸۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. در نهایت میزان کربوهیدرات استخراجی بر اساس جدول استاندارد بدست آمد. میزان پرولین توسط روش بیتز و همکاران (Bates et al., 1973) اندازه‌گیری گردید. غلظت پرولین برگ بصورت میکرومول در هر گرم وزن تر برگ محاسبه شد. مقدار رطوبت نسبی برگ در انتهای مرحله پنجه‌دهی از معادله ۱ محاسبه گردید:

$$RWC=\frac{\text{وزن خشک - وزن تر}}{\text{وزن خشک - وزن آماس شده}} \times ۱۰۰ \qquad [۱]$$

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و آزمون مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD, $p \leq 0.05$) انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای تلقیح با میکروارگانیسم‌های اندوفیت، تیمارهای شوری (۰/۲، ۴، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر) و اثر متقابل آنها بر

وزن زیتوده تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه گندم معنی‌دار ($p < ۰/۰۰۱$) بود (جدول ۱).

افزایش شوری آب آبیاری موجب کاهش وزن زیتوده تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه گندم گردید. کاهش میزان زیتوده تر و خشک قسمت هوایی گیاهان گندم در سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر نسبت به شاهد به ترتیب برابر ۳۶/۱۷ و ۳۳/۲۷ درصد ($p <۰/۰۰۱$) بود (شکل‌های ۱ و ۲).

کاربرد میکروارگانیسم‌های اندوفیت (قارچ و باکتری) موجب افزایش معنی‌دار ($p <۰/۰۰۱$) زیتوده تر و خشک بخش هوایی گیاه گندم گردید که در این بین تأثیر قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا بیشتر بود (جدول ۱). میزان زیتوده تر و خشک در گیاهان تلقیح شده با قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا به طور متوسط حدود ۳۸/۹۶ و ۴۱/۵۸ درصد بیشتر از گیاهان تلقیح نشده بود (شکل‌های ۱ و ۲). این نتایج بیانگر اثر مثبت و معنی‌دار قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا بر وزن زیتوده در گیاه گندم تحت شرایط شور و غیر شور بود. همچنین، نتایج آزمایش بیانگر سودمندی تلقیح گیاه گندم با باکتریهای آزوسپیریلوم سویه سازگار با مناطق شور و غیر شور بر وزن زیتوده گیاهی بود. بین کاربرد سویه باکتری جدا شده از مناطق شور و غیر شور بر صفت ذکر شده اختلافی وجود نداشت و کاربرد باکتری آزوسپیریلوم نیز توانست زیتوده تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه را به میزان ۱۵/۹۲ و ۱۸/۶۷ در مقایسه با عدم کاربرد آن افزایش دهد (شکل‌های ۱ و ۲). علاوه بر این، کاربرد توأمان دو میکروارگانیسم (قارچ و باکتری) و تلقیح جداگانه با قارچ موجب افزایش یکسان زیتوده تحت شرایط شور و غیر شور گردید.

نتایج تجزیه واریانس اثر تلقیح میکروارگانیسم‌های اندوفیت و سطوح مختلف تنش شوری بر مقدار رطوبت نسبی برگ (درصد) در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فقط تنش شوری بر مقدار رطوبت نسبی برگ معنی‌دار ($p <۰/۰۰۱$) بود (جدول ۱).

تنش شوری موجب کاهش مقدار رطوبت نسبی برگ گیاه گندم گردید به طوری که بیشترین مقدار رطوبت نسبی برگ در سطح شوری شاهد (۸۷ درصد) و کمترین مقدار رطوبت نسبی برگ در سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر (۷۴ درصد) حاصل گردید. میزان کاهش مقدار رطوبت نسبی برگ در سطوح شوری ۴، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر نسبت به شاهد به ترتیب ۵/۹۷، ۱۱/۲۶ و ۱۴/۹۴ درصد بود (جدول۳).

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱)، میکروارگانیسم‌های اندوفیت (باکتری‌ها و قارچ) تأثیر معنی‌داری بر میزان کربوهیدرات محلول داشتند ($p<۰/۰۱$). اما اثر تنش شوری بر این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۱)، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت تنش شوری تأثیری بر میزان کربوهیدرات محلول برگ گیاه گندم نداشت. تلقیح گیاه با میکروارگانیسم‌های اندوفیت موجب افزایش معنی-دار ($p <۰/۰۱$) میزان کربوهیدارت محلول برگ گیاه گندم در مقایسه با تیمار شاهد گردید (جدول۱). گیاهان تلقیح شده با قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا بیشترین مقدار کربوهیدرات محلول (۱/۸۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را دارا بودند. میانگین کربوهیدرات محلول در برگ گیاهان تلقیح شده با قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا ۱۴/۵۹ درصد در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش داشت. باکتری‌های آزوسپیریلوم نیز میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ را نسبت به عدم کاربرد آن افزایش داند. بین دو سویه باکتری بر صفت ذکر شده اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و میزان کربوهیدرات‌های محلول را به میزان ۱۱/۷۸ درصد در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش دادند. علاوه بر این، کاربرد توأم دو میکروارگانیسم (باکتری و قارچ) همانند تلقیح جداگانه آنها موجب افزایش یکسان در میزان کربوهیدارت محلول برگ گردید (جدول ۳).

نتایج تجزیه آماری داده‌های مربوط به محتوای کلروفیل نشان داد که شوری تأثیر معنی‌داری ($p < ۰/۰۰۱$) بر مقدار کلروفیل a، b و $a+b$ داشت (جدول ۲). بر اساس نتایج این آزمایش مشخص گردید که شوری موجب کاهش محتوای کلروفیل a، b و $a+b$ در برگ گیاه گندم گردید به طوری که کمترین محتوای کلروفیل a، b و $a+b$ در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر حاصل گردید. این مقادیر برای کلروفیل a، b و $a+b$ به ترتیب از کاهشی معادل ۳۰/۲۵، ۴۳/۶۴ و ۳۴/۹۵ درصد نسبت به شاهد برخودار بودند (جدول ۳). کاربرد میکروارگانیسم‌های اندوفیت میزان کلروفیل برگ گیاه گندم را افزایش داد ($p < ۰/۰۱$). در بین میکروارگانیسم‌های اندوفیت، گیاهان تلقیح شده با قارچ پیریفورموسپورا بیشترین محتوای کلروفیل a، b و $a+b$ را دارا بودند. تلقیح با قارچ

پیریفورموسپورا ایندیکا میزان کلروفیل a، b و $a+b$ نسبت به عدم کاربرد آن به ترتیب ۳۲/۲۴، ۳۳/۳۷ و ۳۱/۴۲ درصد افزایش داد. کاربرد باکتری آزوسپیریلوم نیز موجب افزایش محتوای کلروفیل a، b و $a+b$ به میزان ۱۴/۲۹، ۱۹/۲۳ و ۱۲/۵۷ درصد گردید. اثر باکتری آزوسپیریلوم سویه سازگار به شوری بر محتوای کلروفیل a، b و $a+b$ برگ گیاه گندم بیشتر از اثر باکتری آزوسپیریلوم جدا شده از خاک غیر شور بود. هر چند این میزان افزایش در محتوای کلروفیل برگ در مقایسه با کاربرد قارچ پیریفورموسپورا کمتر بود. همچنین کاربرد توأم دو میکروارگانیسم (قارچ و باکتری) با تلقیح جداگانه قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا اختلاف معنی‌داری نداشت و موجب افزایش یکسان محتوای کلروفیل برگ گندم گردید (جدول ۳).

آنالیز آماری داده‌های مربوط به مقدار پرولین نشان داد که اثر شوری بر میزان پرولین معنی‌دار (p <۰/۰۰۱) بود (جدول۲). با افزایش سطح شوری بر میزان تجمع این ترکیب در بافت سبز برگ افزوده گردید. کمترین میزان پرولین در سطح شوری شاهد با میانگین ۳/۹۴ میکرومول بر گرم وزن تر حاصل شد. بیشترین مقدار این ترکیب مربوط به شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر با میانگین ۶/۱۱ میکرومول بر گرم وزن تر بود (جدول ۳). میزان پرولین در سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر نسبت به شاهد به میزان ۵۵/۰۱ درصد افزایش یافت. کاربرد میکروارگانیسم-های اندوفیت دارای تأثیر معنی‌داری بر میزان تجمع پرولین (p <۰/۰۵) بودند (جدول۲)، به طوری که با کاربرد میکروارگانیسم‌های اندوفیت بر میزان این ترکیب افزوده گردید. در بین میکروارگانیسم‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و گیاهان گندم تلقیح شده با این میکروارگانیسم‌ها مقدار پرولین (به طور متوسط ۵/۵۸ میکرومول بر گرم وزن تر) نسبت به گیاهان شاهد (۳/۶۳ میکرومول بر گرم وزن تر) داشتند. میزان افزایش غلظت پرولین در گیاهان تیمار شده با میکروارگانیسم‌های اندوفیت در مقایسه با گیاهان شاهد برابر ۵۳/۷۱ درصد بود.

افزایش رشد و میزان زیتوده تر و خشک اندام‌های هوایی در گیاهان گندم تلقیح شده با قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا و سویه‌های مختلف باکتری آزوسپیریلوم نسبت به گیاهان شاهد تحت تنش شوری نشان می‌دهد که میکروارگانیسم‌های اندوفیت (قارچ و باکتری) می‌توانند با استفاده مکانیسم‌های مختلفی اثرات سوء نمک در گیاه گندم را کاهش دهند.

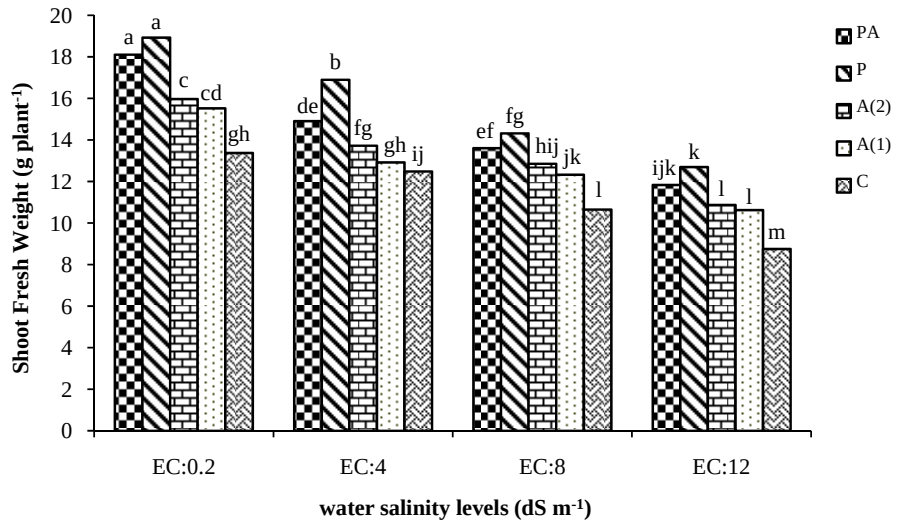
جدول ۱. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر میکروارگانیسم‌ها و سطوح مختلف شوری آب آبیاری بر صفات اندازه‌گیری شده گیاه گندم

Table 1. Analysis of variance (mean square) of the effect of microorganisms and different water salinity levels on measured characteristics of wheat plant

(S.O.V) منابع تغییرات		درجه آزادی df	وزن تر fresh weight	وزن خشک dry weight	محتوای آب نسبی برگ RWC	کربوهیدارت carbohydrate
block	بلوک	2	0.837^{ns}	0.0578^{ns}	13.95^{ns}	0.0131^{ns}
microorganisms	میکروارگانیسم‌ها	4	34.57^{***}	1.6118^{***}	17.17^{ns}	0.1211^{**}
salinity	شوری	3	80.68^{***}	4.633^{***}	480^{***}	0.03052^{ns}
microorganisms × salinity	میکروارگانیسم‌ها × شوری	12	0.801^{**}	0.0907^{**}	6.57^{ns}	0.03786^{ns}
error	خطای آزمایشی	38	0.276	0.0315	7.5114	0.02255
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)		3.89	6.306	3.426	8.785

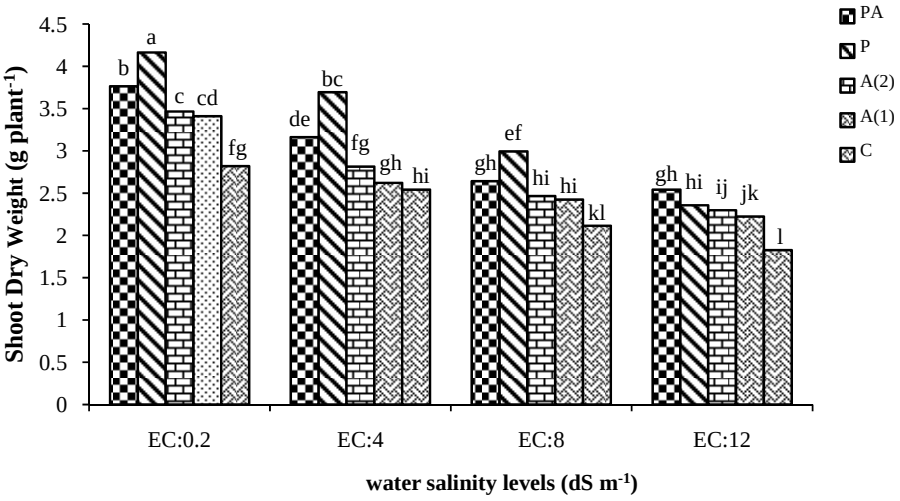
*، **، ***: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱، ns: غیر معنی‌دار

*, **, ***: significant at 0.05, 0.01 and 0.001 probability levels, respectively; ns: means non-significant



شکل ۱. وزن تر اندام‌های هوایی گیاه گندم در تلقیح با میکروارگانیسم‌های اندوفیت (P: قارچ پیریفورموسیورا ایندیکا؛ A(1): باکتری آزوسپیریلوم؛ A(2): آزوسپیریلوم سویه سازگار به شوری؛ PA: تلقیح توام قارچ و باکتری؛ و C: شاهد، تحت تنش شوری آب آبیاری (۰/۲، ۴، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر).

Fig 1. Shoot fresh weight in wheat plants inoculated with microorganisms endophyte (P: *Piriformospora indica*; A(1): *Azospirillum* Sp.; A(2): *Azospirillum* Sp., salt tolerant strain; PA: *P. indica* + *Azospirillum* inoculation; C: control), at different salinity levels (0.2, 4, 8 and 12 dS m^{-1}).



شکل ۲. وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه گندم در تلقیح با میکروارگانیسم‌های اندوفیت (P: قارچ پیریفورموسیورا ایندیکا؛ A(1): باکتری آزوسپیریلوم؛ A(2): آزوسپیریلوم سویه سازگار به شوری؛ PA: تلقیح توام قارچ و باکتری؛ و C: شاهد، تحت تنش شوری آب آبیاری (۰/۲، ۴، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر).

Fig 1. Shoot dry weight in wheat plants inoculated with microorganisms endophyte (P: *Piriformospora indica*; A(1): *Azospirillum* Sp.; A(2): *Azospirillum* Sp., salt tolerant strain; PA: *P. indica* + *Azospirillum* inoculation; C: control), at different salinity levels (0.2, 4, 8 and 12 dS m^{-1}).

جدول ۲. میانگین مربعات مقدار کلروفیل و پرولین در گیاه گندم تیمار شده با میکروارگانیسم‌ها تحت شرایط تنش شوری

Table 2. Mean square of photosynthetic pigments and proline content in wheat plants inoculated with microorganisms under salinity conditions

(S.O.V) منابع تغییرات		درجه آزادی df	کلروفیل *a* Ch *a*	کلروفیل *b* Ch *b*	کلروفیل *a+b* Ch *a+b*	پرولین Proline
block	بلوک	2	0.000154^{ns}	0.00015^{ns}	0.000365^{ns}	0.360^{ns}
microorganisms	میکروارگانیسم‌ها	4	0.001439^{*}	0.00058^{**}	0.02044^{**}	10.77^{*}
salinity	شوری	3	0.007091^{***}	0.00350^{***}	0.02044^{***}	43.29^{***}
microorganisms × salinity	میکروارگانیسم‌ها × شوری	12	0.000396^{ns}	0.00010^{ns}	0.000594^{ns}	5.213^{ns}
error	خطای آزمایشی	38	0.000496	0.000159	0.001032	3.869
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)		19.666	22.594	18.999	27.845

*، **، ***: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱، ns: غیر معنی‌دار

*, **, ***: significant at 0.05, 0.01 and 0.001 probability levels, respectively; ns: means non-significant

جدول ۳. مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده گیاه گندم تحت تأثیر میکروارگانیسم‌ها و شوری آب آبیاری در مرحله پنجه‌دهی

Table 3. Mean comparison for estimated characteristics of wheat plants influence microorganisms and water salinity in tillering stage

تیمارها[§] Treatment[§]	محتوای آب نسبی برگ RWC (%)	کربوهیدارت Carbohydrate (mg g.fresh weight^{-1})	کلروفیل *a* Ch *a*	کلروفیل *b* Ch *b*	کلروفیل *a+b* Ch *a+b*	پرولین Proline (µmol.g fresh weight^{-1})
				(mg mL^{-1})		
میکروارگانیسم‌ها Microorganisms						
P	81.66a	1.798a	0.127a	0.062a	0.187a	5.485a
PA	80.83ab	1.782a	0.117a	0.059ab	0.177ab	5.956a
A(2)	79.33b	1.754ab	0.117a	0.061a	0.178ab	5.040ab
A(1)	78.83b	1.651bc	0.110ab	0.051bc	0.161bc	5.876a
C	79.33b	1.569c	0.096b	0.046c	0.143c	3.633b
شوری (دسی زیمنس بر متر) salinity (dS m^{-1})						
0.2	87.00a	1.708a	0.137a	0.074a	0.212a	3.941c
4	81.80b	1.751a	0.126a	0.062b	0.188b	4.653b
8	72.20c	1.647a	0.094b	0.045c	0.139c	5.890ab
12	74.00d	1.731a	0.096b	0.042c	0.138c	6.109a

حروف یکسان در هر ستون نشانه عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال آماری ۰/۰۵ در آزمون LSD می‌باشد.

§ میکروارگانیسم‌ها: قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (P)، باکتری آزوسپیریلوم (A(1)، باکتری آزوسپیریلوم سویه سازگار به شوری (A(2)، تلقیح توأم قارچ و باکتری (PA) و کنترل (C)

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 0.05 probability level, using LSD (Least Significant Difference) Range test.

1. Microorganisms: *P.indica* (P), *Azospirillum* Sp (A1 and A2), co-inoculation (PA) and control (C).

با افزایش سطوح شوری وزن زیتوده گیاهی کاهش یافت. کاهش میزان زیتوده گیاهی تحت تنش شوری به دلیل کاهش محتوای آب نسبی بافت‌های گیاهی و کاهش غلظت کلروفیل در برگ‌ها است. کاهش محتوای آب نسبی برگ‌ها به مفهوم کاهش وضعیت آبی گیاه است که می‌تواند منجر به بسته شدن روزنه‌ها و عدم ورود دی اکسید کربن لازم برای فتوسنتز گردد، در نتیجه کاهش میزان فتوسنتز موجب کاهش وزن زیتوده گیاهی می‌شود. کاهش در وزن زیتوده گیاهی تحت تنش شوری در اکثر مطالعات دیگر نیز گزارش شده است. وانگ و همکاران (Wang et al., 2007) گزارش دادند که در سطوح شوری ۱۵۰ و

۳۰۰ میلی مولار کلرید سدیم وزن زیتوده اندام‌های هوایی گیاه گندم به ترتیب ۳۶/۹۰ و ۴۶/۵۳ درصد کاهش یافت.

در این آزمایش، قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا با افزایش محتوای آب نسبی برگ‌ها در اثر تجمع اسمولیت‌های آلی و افزایش محتوای کلروفیل برگ توانست وزن زیتوده گیاهی را افزایش دهد. در رابطه با اثر مثبت سویه‌های مختلف باکتری آزوسپیریلوم بر وزن زیتوده اندام‌های هوایی گیاه گندم نیز می‌توان چنین اظهار داشت که باکتری با بهبود وضعیت آبی گیاه و همچنین افزایش محتوای کلروفیل برگ‌ها قادر به افزایش وزن زیتوده گیاهی نسبت به گیاهان شاهد بود. باسیلیو و همکاران (Bacilio et al., 2004) گزارش کردند که استفاده از *Azospirillum lipoferum gfp-tagged* می‌تواند اثرات منفی شوری در گندم را کاهش دهد. نتایج این محققین نشان داد که وزن خشک ریشه و برگ و ارتفاع گیاه در گندم تلقیح شده افزایش یافت؛ آنها یکی از دلایل افزایش عملکرد این گیاهان را به افزایش جذب آب در گیاه نسبت دادند.

تلقیح با قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا محتوای آب نسبی برگ گیاهان گندم تلقیح شده را افزایش داد. محتوای آب نسبی برگ معیار مناسبی جهت بررسی وضعیت آبی گیاه است. افزایش سطوح شوری محتوای آب نسبی برگ را کاهش داد که علت آن می‌تواند کاهش پتانسیل آب خاک و افزایش جذب یون‌های کلر و سدیم باشد (Fricke and Peter, 2002). نتایج مشابهی درخصوص کاهش محتوای آب نسبی برگ در گیاه گندم ناشی از افزایش تنش شوری گزارش شده است (Rasico et al., 2001).

افزایش محتوای آب نسبی برگ در گیاهان تلقیح شده با قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا، شاید به علت سازوکار قدرتمند آن در تنظیم اسمزی باشد، چون بیشترین میزان تجمع کربوهیدرات‌های محلول و پرولین در این تیمار وجود دارد.

میزان تنظیم اسمزی در اندام‌های در حال رشد به تأمین اسمولیت‌ها بستگی دارد، زیرا این عمل با صرف انرژی همراه است و ساختارهای کربنی لازم برای تولید متابولیت‌ها به تداوم فتوسنتز وابسته است (Morgan, 1984). بر این اساس می‌توان گفت که گیاهان تلقیح شده با قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا وضعیت آبی بهتری داشتند و امکان بیشتری برای تداوم فتوسنتز و تولید اسیدهای آلی جهت تأمین ساختارهای کربنی و انرژی برای تنظیم اسمزی داشته‌اند. در نتیجه با حفظ رطوبت بیشتر از یک طرف و جذب دی اکسید کربن بیشتر از طرف دیگر میزان اسیمیلات تولیدی خود را بالا نگه داشته‌اند و بدین ترتیب از تنظیم اسمزی بهره‌مند بودند و با محیط اطراف خود سریع‌تر سازگار گردیدند و در نتیجه توانستند جذب آب بهتری را انجام دهند.

افزایش سطوح شوری تأثیر منفی و معنی‌داری بر محتوای کلروفیل *a*، *b* و *a+b* داشت. کاهش محتوای کلروفیل *a*، *b* و *a+b* که از عوامل مهم تأثیر گذار در ظرفیت فتوسنتزی می‌باشد، با افزایش سطوح شوری موجب ناکارآمدی برگ‌ها در انجام فتوسنتز و تشدید صدمات تنش می‌گردد (Jiang and Huang, 2001). علت کاهش کلروفیل احتمالاً تغییر مسیر متابولیسم نیتروژن در ساخت ترکیب‌هایی مانند پرولین است، که برای تنظیم اسمزی بکار می‌رود. در این آزمایش، تحت تنش شوری محتوای کلروفیل *a*، b و *a+b* کاهش، ولی مقدار پرولین افزایش یافت. کاهش محتوای کلروفیل تحت شرایط تنش شوری که در این آزمایش مشاهده گردید در جو نیز گزارش شده است (Hung and Redman, 1995).

در این آزمایش، افزایش مقدار کلروفیل می‌تواند یکی از مکانیسم‌های افزایش مقاومت گیاه به تنش شوری باشد که می‌تواند به وسیله میکروارگانیسم‌های اندوفیت (قارچ و باکتری) اعمال شود. افزایش محتوای کلروفیل *a*، *b* و *a+b* در گیاهان تلقیح شده با قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا می‌تواند به دلیل بهبود وضعیت آبی گیاه باشد. از دلایل دیگر در افزایش میزان کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با قارچ، جذب بیشتر عناصر معدنی می‌باشد (Jentschke et al., 2000). قارچ میکوریز با افزایش جذب منیزم موجب افزایش سنتز کلروفیل می‌شود (Giri et al., 2002).

مقدار کلروفیل در گیاهان گندم تلقیح شده با باکتری آزوسپیریلوم به ویژه سویه سازگار به شوری افزایش یافت. تأثیر تلقیح باکتری آزوسپیریلوم بر رنگیزه‌های فتوسنتزی در اکثر گزارش‌ها به صورت افزایش مقدار کلروفیل در بیشتر گیاهان بوده است. اسودرزینسکا (Swedrzynska, 2000) گزارش داد که تلقیح گندم با آزوسپیریلوم موجب

افزایش صفات فیزیولوژیکی از جمله مقدار کلروفیل تحت تنش شوری شد.

یکی دیگر از فرآیندهایی که احتمالاً در افزایش مقاومت گیاه گندم به شوری توسط میکروارگانیسم‌های اندوفیت (قارچ و باکتری) تأثیر دارد، تحریک سنتز تنظیم کننده‌های اسمزی است (Rasendohl and Rosendal, 1991). گیاهان فرآیندهای پیچیده‌ای را جهت سازگاری به تنش اسمزی و یونی ناشی از تنش شوری بکار می‌برند. این سازگاری عمدتاً توسط تنظیم کننده‌های اسمزی مانند پتاسیم، قند، گلیسین بتائین و پرولین اتفاق می‌اُفتد (Reedy et al., 2004). در این پژوهش با افزایش سطح تنش شوری غلظت پرولین افزایش یافت. افزایش میزان پرولین در بافت سبز گیاهان در طی بروز تنش شوری توسط بسیاری از محققین گزارش شده است (Khan et al., 2009). تلقیح با قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا میزان کربوهیدرات‌های محلول و پرولین را افزایش داد. رشد بهتر گیاهان تیمار شده با قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا تحت تنش شوری در مقایسه با گیاهان شاهد به علت تولید کربوهیدرات‌های محلول و مقدار پرولین برگ‌ها است. نتایج این تحقیق با نتایج بالتروشات و همکاران (Baltruschat et al., 2008) مطابقت دارد. این محققین گزارش دادند که قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا از طریق تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و محلول‌های سازگار موجب کاهش اثرات سوء تنش شوری و افزایش رشد گیاه جو تحت تحت تنش شوری گردیده است.

تلقیح با سویه‌های مختلف باکتری آزوسپیریلوم نیز نتایج مشابهی در افزایش محلول‌های اسمولیت (کربوهیدرات‌های محلول و پرولین) داشت که افزایش مقدار پرولین ممکن به دلیل نقش باکتری آزوسپیریلوم در تثبیت نیتروژن باشد که با افزایش مقدار نیتروژن موجب افزایش مقدار پرولین گردید (Kandowangko et al., 2009).

نتیجه گیری

کاربرد میکروارگانیسم‌های اندوفیت اثر مثبتی بر زیتوده گیاه گندم تحت شرایط شور و غیر شور داشت. تحت شرایط شور بهبود رشد گیاه گندم تلقیح شده با میکروارگانیسم‌های اندوفیت به واسطه افزایش تنظیم کننده‌های اسمزی و افزایش محتوای کلروفیل بود. در کشور ایران که سطح وسیعی از اراضی کشاورزی متأثر از پدیده شوری است استفاده از این ریزموجودات همزیست می‌تواند راهکاری در جهت افزایش تحمل گیاه زراعی گندم به شوری باشد.

منابع

Al-Karaki, G.N., 2000. Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. Mycorrhiza. 10, 51-54.

Bacilio, M., Rodrguez, H., Moreno, M., Hernandez, J.P., Bashan, Y., 2004. Mitigation of salt stress in wheat seedlings by a gfp-tagged *Azospirillum lipoferum*. Biol. Fert. Soils. 40, 188-193.

Baltruschat, H., Fodor, J., Harrach, B.D., Niemczyk, E., Barna, B., Gullner, G., 2008. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. New Phytol. 180, 501-510.

Bates, L.S., Waldren, R.O., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39, 205-207.

Fricke, W., Peter, W.S., 2002. The biophysics of leaf growth in salt-stressed. A study at the cell level. Plant Physiol. 129, 374-388.

Glick, B., Karaturovic, M., Newell, P.C., 1995. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting *pseudomonads*. Can. J. Microbiol. 41, 533-536.

Giri, B., Kapoor, R., Mukerji, K.G., 2002. VA Mycorrhizal techniques VAM technology in establishment of plants under salinity stress condition. In: Mukerji, K.G., Manoracheir, C., Singh, I., (Eds.), Techniques in Mycorrhizal Studies. Kluwer, Dordrecht, pp. 313-327.

Gorham, R.G., Jones, W., Donnell, E.M., 1985. Some mechanisms of salt tolerance in crop plants. Plant and soil. 6, 15-40.

Hamdi, H., 1999. Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in arid climate. Microbiol. Mol. Biol. Res. 63, 968-989.

Hung, I., Redman, R.E., 1995. Solute adjustment to salinity and calcium supply in cultivated and wild barley. Plant Nutr. 18, 1371-1389.

Jenschke, G., Brandes, B., Kuhn, A.J., Schoder, W.H., Becker, J.S., Godlbdd, D.L., 2000. The mycorrhizal fungus *Paxillus* in volutes magnesium to Norway spruce seedlings. Evidence from stable isotope labeling. Plant and Soil. 220, 243-246.

Jiang, Y., Huang, N., 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Sci. 41, 436-442.

Kandowangko, N., Suryatmana, G., Nurlaeny, N., Simanungkalit, R., 2009. Proline and abscisic acid content in droughted corn plant inoculated with *Azospirillum* sp. and arbuscular mycorrhizae fungi. Hayati. J. Bio. 16, 15-20.

Khan, M.U., Shirazi, M.A., Khan, S.M., Mujtaba, E., 2009. Role of proline, K/Na ratio and chlorophyll content in salt tolerance of wheat (*Triticum aestivum*). Pak. J. Bot. 41(2), 633-638.

Mass, E.V., Hoffman, G.J., 1977. Crop tolerance current assessment. J. Irrig. Drain Div. 103, 115-134.

Mir Mohammadi Mibodi, S., Ghoryazi, B., 2001. Mechanisms Physiologic and Plants to Salinity Stress. University of Ispahen Publication. [In Persian].

Morgan, J.M., 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. Annu. Rev. Plant Physiol. 35, 299-319.

Naidoo, G., Rughunanen, R., 1990. Salt tolerance in the succulent coastal halophytes, *Sarcocarnia natalensis*. J. Exp. Bot. 41, 497- 502.

Qadir, M., Ghafoor, A., Murtaza, G., 2000. Amelioration strategies for saline soils: a review. Land Degrad Devlop. 11, 501–521.

Rasendohl, C.N., Rosendal, S., 1991. Influence of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus* spp.) on the response of Cucumber (*Cucmis sativa L*.) to salt stress. Environ. Exp. Bot. 31, 313-318.

Rasico, A., Russa, M.M., Azzucco, L., Plantani, C., Nisastro, G., Fonx, N.D., 2001. Enhanced osmotolerance of wheat selected for potassium acculmulation. Plant Sci. 160, 41-448.

Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., Vivekanandan, M., 2004. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Plant Physiol. 161, 1189-1202.

Shanon, M.C., 1997. Adaptation of plants to salinity. Adv. Agron. 60, 75-120.

Singh, R.P., Choudhary, A., Gulati, A., Dahiya, H.C., Jaiwal, P.K., Sengar, R.S., 1997. Response of plants to salinity in interaction with other abiotic and factors. In: Jaiwal, P.K., Singh, R.P., Gulati, A. (Eds.), Strategies for Improving Salt Tolerance in Higher Plants. Science Publishers, Enfield, N.H, pp. 25-39.

Strain, H.H., Svec, W.A., 1966. Extraction, separation, estimation and isolation of chlorophylls. In: Vernon, L.P., Seely, G.R., (Eds.), The Chlorophylls. Academic Press, New York. pp, 21-66.

Swedrzynska, D., Sawicka ,A., 2000. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on development and yielding of maize (*Zea mays ssp. saccharata L*.) under different cultivation conditions. Pol. J. Environ. Stud. 9, 505-509.

Thimmaiah, S.R., 2004. Standard Methods of Biochemical Analysis. Kalyani Publishers, New Delhi. pp 545.

Wang, Z.Q., Yuan, Y.Z., Ou, j., Lin, Q.H., Zhang, C.F., 2007. Glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase contribute differentially to proline accumulation in leaves of wheat (*Triticum aestivum*) seedlings exposed to different salinity. Plant Physiol. 164, 695-701.

Varma, A., Singh, A., Sudha, S., Sahay, N., Sharma, J., Roy, A., Kumari, M., Rana, D., Thakran, S., Deka, D., Bharti, K., Franken, P., Hurek, T., Blechert, O., Rexer, K.H., Kost, G., Hahn, A., Hock, B., Maier, W., Walter, M., Strack, D., Kranner, I., 2001. *Piriformospora indica*: a cultivable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus. In: Varma, A., Hock, B. (Eds.), Mycota IX. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp. 123-150.

Varma, A., Verma, S., SudhaSahay, N., Butehorn, B., Franken, P., 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. Appl. Environ. Microbiol. 65, 2741-2744.

Verma, S.A., Varma, A., Rexer, K.H., Hassel, A., Kost, G., Sarbhoy, A., Bisen, P., Butehorn, B., Franken, P., 1998. *Piriformospora indica*, gen. et. sp. Nov., a new root colonizing fungus. Mycologia. 90, 898-905.

Yano-melo, A.M., Saggin, J.D., Maia. L.C., 2003. Tolerance of mycorrhized banana (*Musa sp*.cv.*Pacovan*) plantlets to saline stress. Agric. Ecosyst. Environ. 95, 343-348.

Zahir, Z.A., Arshad, M., Frankenberger, W.T., 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. Adv. Agron. 81, 97-168.

Zarea, M.J., Hajinia, S., Karimi, N., Mohammadi Goltapeh, E., Rejali, F., Varma, A., 2012. Effect of *Piriformospora indica* and *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. Soil Biol. Biochem. 45, 139-146.